

乳癌における HER1, HER2 発現の治療効果や予後の予測因子としての意義

山本 裕

増殖因子受容体 HER1, HER2 の過剰発現は、乳癌の20-40%に認められ、予後不良因子として知られている。また、HER1, HER2 を過剰発現する乳癌はホルモン療法に耐性を示し、化学療法（アントラサイクリン[A]やタキサン[T]系薬剤）に良好な反応を示すことが報告されており、治療効果予測因子としても注目されている。さらに最近、HER1, HER2 のシグナル伝達を阻害する薬剤が開発され、臨床応用が始まっている。そこで、HER1, HER2 の治療効果や予後の予測因子としての有用性を検討した。＜対象と方法＞1991年～1999年に川崎医科大学乳腺甲状腺外科で根治手術を行った原発乳癌420例のうち、再発後の治療経過が判明している52例を対象とした。原発乳癌標本を用い、HER2, p53, Ki67 を免疫組織化学的に検討し、HER1 はリガンド結合法にて測定した。治療効果や予後との相関は、単変量及び多変量解析にて分析した。＜結果＞HER1, HER2, p53 の陽性率は、各々30.8%, 19.2%, 26.9%で、Ki67 高標識例は46.2%であった。治療効果や予後との関連をまとめると、1) HER1 や HER2 陽性症例は、A 系薬剤に奏効しやすいが、再発後生存期間は短く、予後不良であった。2) HER2 陽性症例は、T 系薬剤に奏効しやすいが、予後とは無関係であった。3) HER1 陽性症例は、ホルモン療法に奏効しやすいが、無進行期間や再発後生存期間は短く、予後不良であった。4) Ki67 高標識乳癌症例は、ホルモン療法の治療効果とは無関係であったが、再発後生存期間は短く、予後不良であった。＜考察＞HER1 や HER2 陽性乳癌は、化学療法やホルモン療法に比較的良く奏効するが、早期に耐性を獲得し、患者を早期に死に至らしめることが示された。今後は、HER1 や HER2 陽性乳癌に対して、HER1 や HER2 のシグナル伝達阻害剤の併用が考慮されるべきである。

(平成15年2月7日受理)

Prognostic and Predictive Values of HER1 and HER2 Overexpression in Breast Cancer

Yutaka YAMAMOTO

Overexpression of the epidermal growth factor receptors, HER1 and HER2, has been detected in 20-40% of primary breast cancers. It has been suggested that patients with breast cancer overexpressing these receptors have a poor prognosis. Their overexpression has been also suggested to be a predictive factor for the response to therapy. HER1- and HER2-overexpressing breast cancers have been shown to be resistant to an antiestrogen, tamoxifen. HER2-overexpressing

breast cancer has been reported to be sensitive to anthracycline-containing regimens and taxanes. Recently a selective HER1 tyrosine kinase inhibitor, ZD1839, and a humanized anti-HER2 monoclonal antibody, trastuzumab, have been developed and introduced into clinics. These findings prompted us to investigate the prognostic and predictive values of HER1 and HER2 overexpression in breast cancer. <Patients and Methods> A total of 420 patients underwent radical operation at the Department of Breast and Thyroid Surgery, Kawasaki Medical School between 1991 and 1999. From among these, 52 patients with recurrent disease in whom response and outcome to therapies were evident were selected as the subjects of this study. Paraffin-embedded primary breast cancer specimens of these patients were immunohistochemically examined for HER2, p53 and Ki67 expression. The HER1 expression was examined by a ligand-binding assay. Correlation between the expression of these biological markers and the survival or response to therapies was investigated using uni- and multivariate analyses. <Results> HER1, HER2 and p53 were overexpressed in 30.8%, 19.2% and 26.9% of breast cancers tested, respectively. A high Ki67-labeling index was observed in 46.2% of them. Systematic analyses on the prognostic and predictive values of HER1 and HER2 overexpression revealed several interesting findings: 1) Patients with breast cancer overexpressing HER1 or HER2 were sensitive to anthracycline-containing regimens. However, their post-relapse survival was significantly shorter than that of the other patients. 2) Patients with HER2-overexpressing breast cancer were significantly more sensitive to taxanes than the others. However, taxanes did not provide a longer post-relapse survival to the patients. 3) Patients with HER1-overexpressing breast cancer tended to be sensitive to endocrine therapy. However, their time-to-progression tended to be shorter, and post-relapse survival was significantly shorter than that of the others. 4) Patients with breast cancer showing a high Ki67-labeling index were not resistant to endocrine therapy. Their post-relapse survival was significantly shorter than that of the others. <Conclusion> These findings suggest that patients with breast cancer overexpressing HER1 or HER2 are relatively sensitive to endocrine therapy and chemotherapy, but that such breast cancer rapidly acquires resistance to these therapies, resulting in a shorter survival for the patients. Therefore, involving combined treatment chemotherapy or endocrine therapy and a signal inhibitor of HER1 or HER2 might possibly be superior to chemotherapy or endocrine therapy alone. (Accepted on February 7, 2003) *Kawasaki Igakkaishi* 29(1): 47-58, 2003

Key Words ① Breast cancer ② HER1 ③ HER2 ④ Predictive factor
⑤ Prognostic factor

は じ め に

増殖因子受容体 HER1 および HER2 は, HER (human epidermal growth factor receptor) ファミリーに所属する膜貫通型受容体であり, 乳癌の20-40%に過剰発現を認める^{1), 2)}. HER1 はリガンド (epidermal growth factor, transforming growth factor- α など) と結合し, HER1-HER1

の homodimer や HER1-HER2 の heterodimer を形成し, phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/AKT, mitogen activated protein kinase (MAPK) などの細胞内シグナル伝達系を活性化し, 癌細胞の増殖や悪性形質発現に寄与している³⁾. HER1, HER2 を過剰発現する乳癌を有する患者の予後は不良とされ, 予後因子として知られている^{1), 2)}. そのような患者の予後を改善するため, HER1, HER2 のシグナル伝達を阻害す

る薬剤が最近開発され、臨床応用が始まっている^{4),5)}。また、HER1を過剰発現する乳癌はホルモン療法耐性を示すことが報告されている⁶⁾。さらに、HER2を過剰発現する乳癌は、ホルモン療法に耐性を示し⁷⁾、化学療法（アントラサイクリン[A]⁸⁾、タキサン[T]系薬剤⁹⁾）に高い感受性を示すことも報告されている。そこで、HER1, HER2 発現の治療効果や予後の予測因子としての有用性を川崎医科大学乳腺甲状腺外科で治療を受けた乳癌症例を用いて検討した。

患者と方法

(1) 患者と方法の概略：1991年～1999年に川崎医科大学乳腺甲状腺外科で根治手術を行った原発乳癌420例のうち再発が認められたのは72例（17.1%）であった。そのうち再発後の治療経過が判明している52例を検討対象とした。原発乳癌組織標本を用い、HER2発現を免疫組織化学的に検討した。また、癌抑制遺伝子産物 p53 陽性例は化学療法に耐性を示し¹⁰⁾、増殖能の指標である Ki67 の高標識例は化学療法に高い感受性を認める¹¹⁾との報告があるため、本研究において p53 と Ki67 発現を免疫組織化学的に検討した。HER1 発現は、新鮮凍結標本を用いたりガンド結合法にて測定した¹²⁾。これらの因子に臨床病理学的諸因子を加え、再発後の治療効果、無進行期間、生存期間との関連を単変量及び多変量解析を用い分析した。

Table 1. 免疫染色方法

Envision法—HER2—	ABC法—p53, Ki67—
1.脱パラフィン	1.脱パラフィン
2.抗原賦活化 microwave 15 min	2.抗原賦活化 microwave 15 min
3.内因性ペルオキシダーゼ 活性の阻止：10 min	3.内因性ペルオキシダーゼ 活性の阻止：5 min
4.一次抗体の反応：60 min rabbit, polyclonal, DAKO, 1:100	4.ブロッキング：20 min
5.ポリマー試薬の反応：60 min	5.一次抗体の反応：60 min p53：mouse, monoclonal, DAKO, 1:50
6.発色：DAB 10 min	Ki67：mouse, monoclonal, DAKO, 1:50
7.核染色：ヘマトキシリン	6.2次抗体の反応：30 min
	7.酵素試薬：30 min
	8.発色：DAB 10 min
	9.核染色：ヘマトキシリン

Table 2. 免疫染色判定方法

HER2 (HercepTestに準じて分類) 0：癌細胞<10% 1+：癌細胞≥10%、細胞膜が部分的に染色 2+：癌細胞≥10%、弱～中程度の完全な細胞膜の染色 3+：癌細胞≥10%、強い完全な細胞膜の染色 2+, 3+を陽性とした。
p53 光学顕微鏡の強拡大視野で癌細胞を500個カウントし、これを5視野で行った。核の染色された癌細胞の%を算出し、10%以上を陽性とした。
Ki67 p53と同様に行い、10%以上を高標識、10%未満を低標識とした。

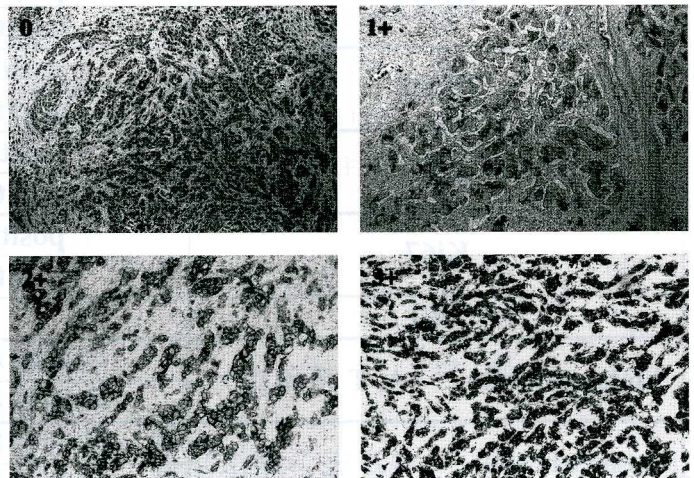


Fig. 1.

(2) 免疫染色：パラフィン包埋された原発乳癌組織標本から厚さ 5 μm の切片を作成し、脱パラフィン後、マイクロウェーブを用いて抗原

賦活化を行った。その後、3%過酸化水素を用い内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止を行い、1次抗体と反応させた。免疫組織化学的手

法としては、HER2 に対しては Envision 法 (DAKO) を p53, Ki67 に対しては avidin-biotinylated peroxidase complex (ABC) 法を用いた。diaminobenzidine (DAB) にて発色させ、ヘマトキシリンで核染色を行い、光学顕微鏡にて観察した (Table 1)。HER2 発現は HercepTest (DAKO) に準じ、0 から 3 + の 4 段階に分類し、2 +, 3 + を陽性と判定した¹³⁾。p53 と Ki67 は強拡大視野

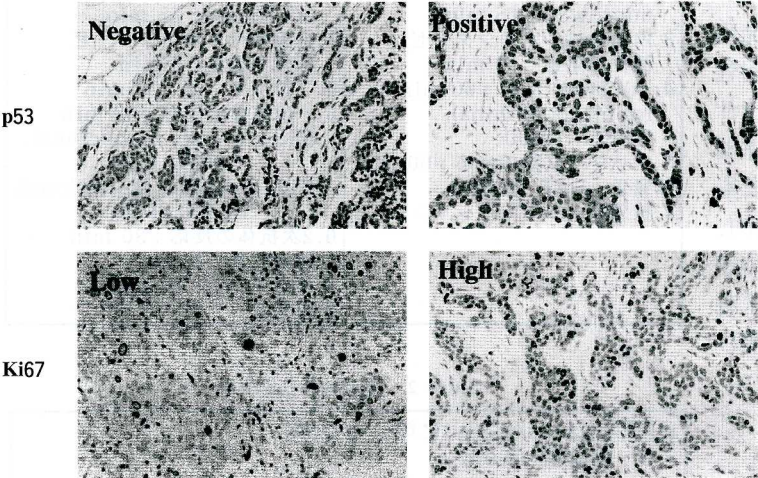


Fig. 2.

Table 3. 多変量解析で用いたスコア

Age		continuous
Histology	scirrhus	0
	others	1
ER	negative	0
	positive	1
PgR	negative	0
	positive	1
HER1	positive	0
	negative	1
HER2	positive	0
	negative	1
p53	positive	0
	negative	1
Ki67	positive	0
	negative	1
DFI		continuous
Metastatic site (A, T 系薬剤)	内臓転移なし	0
	内臓転移あり	1
Metastatic site (ホルモン療法)	骨・軟部組織転移なし	0
	骨・軟部組織転移あり	1

で癌細胞500個を調べ、核に陽性染色された癌細胞のパーセンテージを算出した。p53 は10%以上を陽性とし、Ki67 は10%以上を高標識例とした¹⁴⁾ (Table 2)。HER2, p53, Ki67 の免疫組織所見の例を Figure 1 および Figure 2 に示す。

(3) 統計学的検討：再発後の治療方法別に治療効果 (WHO の判定基準に従った¹⁵⁾)、無進行期間、再発後生存期間に関して、単変量および多変量解析を行った。単変量解析は分割表分析 (χ^2 乗検定) と Kaplan-Meier 法 (logrank test)

Table 4. 患者背景

カテゴリー1	カテゴリー2	症例数	陽性率 (%)
年齢	53歳		
Stage	1	8例	-
	2	29例	
	3a	7例	
	3b	8例	
術式	乳房切除術	46例	-
	乳房温存術	6例	
組織型	乳頭腺管癌	4例	-
	充実腺管癌	15例	
	硬癌	32例	
	その他	1例	
リンパ節転移	陰性	8例	84.6
	陽性	44例	
ER	陰性	19例	63.5
	陽性	33例	
PgR	陰性	20例	61.5
	陽性	32例	
DFI	22ヵ月		
初再発部位*	軟部組織	27例	-
	骨	25例	
	内臓	14例	
	脳	1例	
治療*	単独ホルモン	17例	-
	A系薬剤	22例	
	T系薬剤	15例	
生存期間	52ヵ月		
再発後生存期間	24ヵ月		

*重複例あり

を, 多変量解析は重回帰分析と Cox proportional hazard model を用い, それぞれ $p < 0.05$ を有意とした. 多変量解析で用いた独立変数, 従属変数のスコアを **Table 3** に示す.

結 果

(1) 患者背景 (**Table 4**) : 年齢の中央値は 53歳, リンパ節転移は84.6%に認め, estrogen

receptor (ER), progesterone receptor (PgR) の陽性率はそれぞれ63.5%, 61.5%であった. 無病期間 (disease-free interval, DFI) の中央値は 22ヵ月で, 14例に内臓転移を認めた. 単独ホルモン療法は17例に, A系薬剤は22例に, T系薬剤は15例に投与された. 観察期間の中央値は52ヵ月で, 再発後生存期間の中央値は24ヵ月であった.

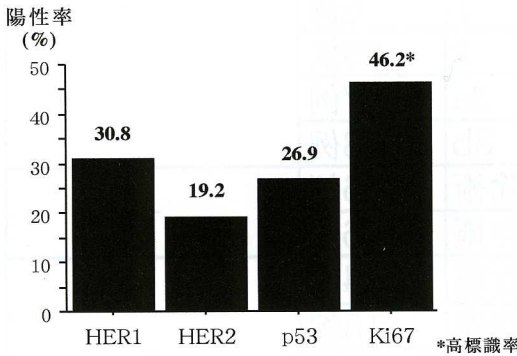


Fig. 3.

(2) 免疫染色結果 (**Fig. 3**) : HER1, HER2, p53 の陽性率は, 各々30.8%, 19.2%, 26.9% で, Ki67 高標識例は46.2%であった.

(3) 単変量解析結果:

1) HER1 陽性乳癌は, HER1 陰性乳癌に比べホルモン療法や A系薬剤に奏効しやすい傾向にあるが, 再発後生存期間は有意に短く ($p < 0.01$), 予後不良であった (**Tables 5, 6**).

2) HER2 陽性乳癌は, HER2 陰性乳癌に比べ

Table 5. 単変量解析 (単独ホルモン療法-17例-)

Variable	N	奏効率		TTP		OS	
		%	P	中央値	P	中央値	P
HER1							
Positive	4	50.0	N.S.	8.0	N.S.	21.0	<0.01
Negative	13	38.5		20.0		42.2	
HER2							
Positive	2	50.0	N.S.	38.0+	N.A.	78.0+	N.A.
Negative	15	40.0		8.8		34.4	
p53							
Positive	2	0	N.S.	24.0+	N.A.	43.0+	N.A.
Negative	15	46.7		12.4		34.4	
Ki67							
High	10	40.0	N.S.	15.0	N.S.	24.8	<0.05
Low	7	42.9		5.8		78.0	

T 系薬剤に奏効するが ($p < 0.01$), 予後とは無関係であった (Table 7).

- 3) Ki67 高標識乳癌に対し, ホルモン療法を行うと, Ki67 低標識乳癌に比べ再発後生存期間が有意に短く ($p < 0.05$), 予後不良であった (Table 5).
- 4) p53 はホルモン療法, A 系薬剤, T 系薬剤の治療効果や予後とは無関係であった.

(4) 多変量解析結果:

- 1) ホルモン療法施行例における再発後生存期間の規定因子は, HER1 陽性のみ ($p < 0.05$) であり, hazard ratio (HR) は 6.45 であった (Table 8).
- 2) A 系薬剤投与例における治療効果の予測因子は, 若年 ($p < 0.05$), HER1 陽性 ($p < 0.01$), HER2 陽性 ($p < 0.05$), Ki67 低標識 ($p < 0.05$) であった. また, 再発後生存期間の規定因子は, HER1 陽性 ($p < 0.05$, HR 3.91), HER2 陽性 ($p < 0.01$, HR 9.86),

Ki67 高標識 ($p < 0.05$, HR 3.65), 短い DFI ($p < 0.05$) であった (Table 9).

- 3) T 系薬剤投与例における治療効果の予測因子は, HER2 陽性のみ ($p < 0.01$) であった (Table 10).

多変量解析結果のまとめを Table 11 に示す.

ここまでの検討で, HER1 陽性乳癌はホルモン療法に対して感受性を示し, 従来の報告と異なるため, 単独ホルモン療法を行った HER1 や HER2 を過剰発現する乳癌 6 症例において検討した. その結果, 合成黄体ホルモン剤 medroxyprogesterone acetate (MPA) は, TAM に比べ奏効率が高い傾向にあり, time to progressive (TTP) および再発後生存期間も長い傾向を示した ($p = 0.26$, Fig. 4).

考 察

乳癌はエストロゲン依存性の悪性腫瘍であり,

Table 6. 単変量解析 (A 系薬剤 - 22例 -)

Variable	N	奏効率		TTP		OS	
		%	P	中央値	P	中央値	P
HER1							
Positive	6	50.0	N.S.	2.5	N.S.	16.0	< 0.01
Negative	16	12.5		2.0		28.2	
HER2							
Positive	4	50.0	N.S.	3.0	N.S.	12.0	N.S.
Negative	18	16.7		2.5		22.2	
p53							
Positive	6	16.7	N.S.	1.7	N.S.	12.0	N.S.
Negative	16	25.0		4.1		22.2	
Ki67							
High	11	36.4	N.S.	2.0	N.S.	17.0	N.S.
Low	11	9.1		3.5		27.1	

Table 7. 単変量解析 (T系薬剤-15例-)

Variable	N	奏効率		TTP		OS	
		%	P	中央値	P	中央値	P
HER1							
Positive	5	40.0	N.S.	19.0	N.S.	27.2	N.S.
Negative	10	20.0		4.8		25.0	
HER2							
Positive	5	80.0	<0.01	6.6	N.S.	32.0	N.S.
Negative	10	0		4.8		23.2	
p53							
Positive	6	16.7	N.S.	7.2	N.S.	17.0	N.S.
Negative	9	33.3		5.0		26.8	
Ki67							
High	8	25.0	N.S.	13.5	N.S.	26.6	N.S.
Low	7	28.6		5.2		19.0	

Table 8. ホルモン単独療法施行例における多変量解析結果

Variable	Hazard ratio (HR)	95% CI	p
HER1陽性	6.45	1.42-29.31	<0.05

抗エストロゲン剤である tamoxifen (TAM) を中心としたホルモン療法が約30年前から行われており、患者の予後改善に大きな役割を果たしてきた¹⁶⁾。ホルモン療法に対する最良の治療効果予測因子は乳癌細胞における ER 発現であるが、ER 陽性乳癌であっても、ホルモン療法に反応する症例は50%程度である¹⁷⁾。さらに、一旦ホルモン療法反応した乳癌であっても、いずれ耐性を獲得する。今のところホルモン療法耐性獲得の共通するメカニズムは不明である¹⁸⁾。最近の研究により、ER 発現と HER1 や HER2 発現は逆相関し^{19), 20)}、HER1 や HER2 陽性乳癌が TAM に耐性を示すことが報告された^{6), 7)}。そのメカニズムとしては、HER1 や HER2 過剰発現により MAPK が活性化されると ER のセ

リン118がリン酸化され、TAM がエストロゲンのアゴニストとして ER の転写を促進することが報告されている²¹⁾。

今回の検討では、単独ホルモン療法は HER1 や HER2 を過剰発現する乳癌に対し比較的良好な反応を示した。この結果を支持する報告として、第3世代のアロマターゼ阻害剤であるレトロゾールと TAM を術前療法として用いた研究がある²²⁾。レトロゾールは HER1 and/or HER2 過剰発現乳癌に対し、極めて良好な奏効率が得られたが、TAM の奏効率は低率であった。そのメカニズムとし、レトロゾールには、アロマターゼ阻害剤の本来の作用であるエストロゲン枯渇に加え、MAPK を直接阻害する作用があり、HER1 and/or HER2 過剰発現乳癌に奏効したのではないかと推測されている。一方、TAM は前述したようなアゴニスト作用により効果が得られなかったと考えられている。

今回の検討では、HER1 や HER2 を過剰発現する乳癌にアロマターゼ阻害剤を使用した症例

Table 9. A系薬剤施行例における多変量解析
治療効果予測因子

Variable	回帰係数	p
若年	0.02	<0.05
HER1 陽性	0.59	<0.01
HER2 陽性	0.46	<0.05
Ki67 低標識	0.35	<0.05

再発後生存期間規定因子

Variable	Ratio	95%CI	p
HER1 陽性	3.91	1.21-12.65	<0.05
HER2 陽性	9.86	1.79-54.19	<0.01
Ki67 高標識	3.65	1.13-11.84	<0.05
DFI	0.94	0.89-0.99	<0.05

Table 10. T系薬剤施行例における多変量解析

Variable	回帰係数	P
HER2 陽性	0.80	<0.01

はなかった。しかし、単独ホルモン療法を行った HER1 や HER2 を過剰発現する乳癌 6 症例において、MPA は、TAM に比べ奏効率が高い傾向にあり、TTP および再発後生存期間も長い傾向を示した ($p=0.26$, Fig. 4)。MPA が HER1 and/or HER2 陽性乳癌に対し高い奏効率を示すとの報告はこれまでにない。また、TAM の効果が不良であったのは、前述のメカニズムに起因している可能性がある。従って、ホルモン療法の種類によっては、HER1 and/or HER2 陽性乳癌に感受性を示すことが示唆された。しかし、もう一つの問題点は、HER1 や HER2 を過剰発現する乳癌では、例えホルモン療法剤が奏効したとしても、治療効果が持続する期間（無進行期間）が短いことである。従って、ホルモン療法の治療効果の増強や抵抗

性獲得の遅延を目指し、HER1 や HER2 のシグナル伝達を阻害する薬剤の併用投与が有効かも知れない。現在、本仮説の妥当性を検証するため基礎的検討を行っている。

一方、HER1 や HER2 陽性乳癌症例が A 系や T 系薬剤に対し高い奏効率を示した原因は、今のところ不明である。一つの可能性としては、HER1 や HER2 陽性乳癌は増殖能の高いことが知られており、化学療法が効きやすかったのかも知れない。しかし、そのような症例では、ホルモン療法の場合と同様に、奏効期間、無進行期間さらに再発後生存期間が短かったこと

は問題である。HER1 や HER2 陽性乳癌は、oncogenic tyrosine kinase 活性が促進されており、早期に化学療法剤に耐性を獲得することが知られている¹⁸⁾。また、HER2 過剰発現と多剤耐性遺伝子 multidrug resistance-1 (MDR-1) 発現が正の相関を示すとの報告がある²³⁾。今回の検討では、HER2 陽性乳癌が一旦奏効を示すことから、奏効が得られた後、何らかのメカニズムで MDR-1 が活性化され、薬剤耐性を獲得する可能性も考えられる。

本研究により、これまで標準的に用いられていたホルモン療法や化学療法では、HER1 や

Table 11. 多変量解析のまとめ

ホルモン単独療法 治療効果予測因子：独立因子なし TTP規定因子：独立因子なし 再発後生存期間規定因子：HER1陽性
A系薬剤 治療効果予測因子：HER1陽性、HER2陽性、Ki67低標識、若年 TTP規定因子：独立因子なし 再発後生存期間規定因子：HER1陽性、HER2陽性、Ki67高標識、短いDFI
T系薬剤 治療効果予測因子：HER2陽性 TTP規定因子：独立因子なし 再発後生存期間規定因子：独立因子なし

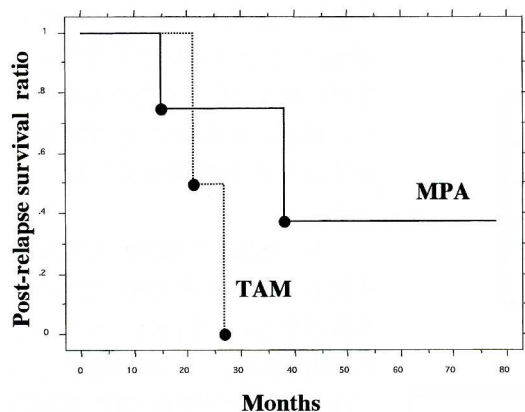


Fig. 4.

HER2 陽性乳癌の予後を改善するには至らないことが判明した。HER1 や HER2 のシグナル伝達阻害剤 (ZD1839 や トラスツズマブ^{4,5)}) が使えるようになった現在、標準的治療法に加え、これらシグナル伝達阻害剤を併用投与することの有用性が問われている。今後は、これらシグナル伝達阻害剤と標準的薬剤との併用に関する基礎的研究を進め、さらに併用効果に関する前向き臨床試験が行われるべきである。

結 語

HER1 や HER2 陽性乳癌は、化学療法やホルモン療法に比較的良く奏効するが、早期に耐性を獲得し、患者を早期に死に至らしめる。

今後は、HER1 や HER2 陽性乳癌に対して、HER1 や HER2 のシグナル伝達阻害剤の併用が考慮されるべきである。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、御指導と御高閲を賜りました川崎医科大学外科学 (乳腺甲状腺) 教室 園尾博司教授に深甚なる謝意を表します。また研究の技術的な面で御支援頂いた川崎医科大学外科学 (乳腺甲状腺) 教室 紅林淳一助教授、田中克浩講師、川崎医科大学衛生学 大槻剛已助教授に謝意を表すとともに、免疫組織染色法を直接御助言、御指導頂いた川崎医科大学病理部 定平吉都教授をはじめとする病理部員各位に深謝致します。なお、本研究の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費 (No. 13-501, No. 14-501) および文部科学省・学術振興会科学研究費補助金 (課題番号12671187, 14571166) の援助により行われた。

文 献

- 1) Fox SB, Harris AL : The epidermal growth factor receptor in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2 : 131-141, 1997
- 2) Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL : Human breast cancer : correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235 : 177-182, 1987
- 3) Bundred NJ, Chan K, Anderson NG : Studies of epidermal growth factor receptor inhibition in breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 8 : 183-189, 2001
- 4) Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, Baly D, Baughman SA, Twaddell T, Glaspy JA, Slamon DJ : Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 16 : 2659-2671, 1998
- 5) Ranson M, Hammond LA, Ferry D, Kris M, Tullo A, Murray PI, Miller V, Averbuch S, Ochs J, Morris C, Feyereislova A, Swaisland H, Rowinsky EK : ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors : results of a phase I trial. *J Clin Oncol* 20 : 2240-2250, 2002
- 6) Nicholson S, Halcrow P, Sainsbury JR, Angus B, Chambers P, Farndon JR, Harris AL : Epidermal growth factor receptor (EGFr) status associated with failure of primary endocrine therapy in elderly postmenopausal patients with

breast cancer. *Br J Cancer* 58 : 810–814, 1988

- 7) Elledge RM, Green S, Ciocca D, Pugh R, Allred DC, Clark GM, Hill J, Ravdin P, O'Sullivan J, Martino S, Osborne CK : HER-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer : a Southwest Oncology Group Study. *Clin Cancer Res* 4 : 7–12, 1998
- 8) Paik S, Hazan R, Fisher ER, Sass RE, Fisher B, Redmond C, Schlessinger J, Lippman ME, King CR : Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project : prognostic significance of erb-B2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 8 : 103–112, 1990.
- 9) Baselga J, Seidman AD, Rosen PP, Norton L : HER2 overexpression and paclitaxel sensitivity in breast cancer : therapeutic implications. *Oncology (Huntingt)* 11 (Suppl 2) : 43–48, 1997
- 10) MacGrogan G, Bonichon F, de Mascarel I, Trojani M, Durand M, Avril A, Coindre JM : Prognostic value of p53 in breast invasive ductal carcinoma : an immunohistochemical study on 942 cases. *Breast Cancer Res Treat* 36 : 71–81, 1995
- 11) MacGrogan G, Mauriac L, Durand M, Bonichon F, Trojani M, de Mascarel I, Coindre JM : Primary chemotherapy in breast invasive carcinoma : predictive value of the immunohistochemical detection of hormonal receptors, p53, c-erbB-2, Mib1, pS2 and GST pi. *Br J Cancer* 74 : 1458–1465, 1996
- 12) Newby JC, A'Hern RP, Leek RD, Smith IE, Harris AL, Dowsett M : Immunohistochemical assay for epidermal growth factor receptor on paraffin-embedded sections : validation against ligand-binding assay and clinical relevance in breast cancer. *Br J Cancer* 71 : 1237–1242, 1995
- 13) Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, Barnes MJ, Schnitt SJ : Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system. *J Clin Oncol* 17 : 1983–1987, 1999
- 14) Mottolese M, Benevolo M, Del Monte G, Buglioni S, Papaldo P, Nistico C, Di Filippo F, Vasselli S, Vici P, Botti C : Role of P53 and BCL-2 in high-risk breast cancer patients treated with adjuvant anthracycline-based chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 126 : 722–729, 2000
- 15) World Health Organization Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Geneva, Switzerland, World Health Organization, 1979
- 16) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group : Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. 133 randomised trials involving 31.000 recurrences and 24.000 deaths among 75.000 women. *Lancet* 339 : 71–85, 1992
- 17) McGuire WL : Current status of estrogen receptors in human breast cancer. *Cancer* 36 : 638–644, 1975
- 18) Kurebayashi, J : Endocrine-resistant breast cancer : underlying mechanisms and strategies for overcoming resistance. *Breast Cancer*, 2003 (in Press)
- 19) Birner P, Oberhuber G, Stani J, Reithofer C, Samonigg H, Hausmaninger H, Kubista E, Kwasny W, Kandioler-Eckersberger D, Gnant M, Jakesz R : The Austrian Breast & Colorectal Cancer Study Group : Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved scoring and test system of HER-2 protein expression in breast cancer. *Clin Cancer Res* 7 : 1669–1675, 2001
- 20) Koenders PG, Beex LV, Geurts-Moespot A, Heuvel JJ, Kienhuis CB, Benraad TJ : Epidermal growth factor receptor-negative tumors are predominantly confined to the subgroup of estradiol receptor-positive human primary breast cancers. *Cancer Res* 51 : 4544–4548, 1991
- 21) Kurokawa H, Arteaga CL : Inhibition of erbB receptor (HER) tyrosine kinases as a strategy to abrogate antiestrogen resistance in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 7 (Suppl) : 4436s–4442s, 2001
- 22) Ellis MJ, Coop A, Singh B, Mauriac L, Llombert-Cussac A, Janicke F, Miller WR, Evans DB, Dugan M, Brady C, Quebe-Fehling E, Borgs M : Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1 and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer : evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 19 : 3795–3797, 2001

- 23) Schneider J, Rubio MP, Barbazan MJ, Rodriguez-Escudero FJ, Seizinger BR, Castresana JS : P-glycoprotein, HER-2/neu, and mutant p53 expression in human gynecologic tumors. *J Natl Cancer Inst* 86 : 850-855, 1994